

УДК 57.576.32/36.59.591.111.1

**Д.Э. ПОДОЛЬСКИЙ**

аспирант<sup>1</sup>

**В.Т. ЧЕЩЕВИК**, канд. биол. наук, доцент

доцент кафедры биотехнологии

декан биотехнологического факультета<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Полесский государственный университет,

г. Пинск, Республика Беларусь

*Статья поступила 31 марта 2021 г.*

## **ФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ В МЕХАНИЗМАХ АКТИВАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ: МОДЕЛЬ УЧАСТИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНО-АССОЦИИРОВАННЫХ МЕМБРАН**

*В статье представлены современные данные о молекулярных механизмах функционирования тромбоцитов и роли в этом процессе митохондрий и митохондриально-ассоциированных мембран, а также проведен анализ возможных механизмов участия митохондриально-ассоциированных мембран тромбоцитов в развитии ряда патологических состояний человека неинфекционной природы.*

**Ключевые слова:** тромбоциты, гемостаз, митохондрии, митохондриально-ассоциированные мембраны (MAMs), кальциевая сигнализация, апоптоз, рак, сахарный диабет, ишемическая болезнь сердца, болезнь Альцгеймера.

**PODOLSKY Dmitry E.**

Graduate Student<sup>1</sup>

**CHESHCHEVIK Vitali T.**, PhD in Biolog. Sc., Associate Professor

Associate Professor of the Department of Biotechnology<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Polesky State University, Pinsk, Republic of Belarus

## **MITOCHONDRIA IN THE MECHANISMS OF PLATELETS ACTIVATION: MODEL OF THE MITOCHONDRIA-ASSOCIATED MEMBRANES CONTRIBUTION**

*The article presents current data of the molecular mechanisms of platelet function and the role of mitochondria and mitochondrial-associated membranes in platelet physiology. The role of mitochondria and mitochondrial-associated membranes of platelets are shown in the development of several non-infectious human pathologies.*

**Keywords:** platelets, hemostasis, mitochondria, mitochondria-associated membranes (MAMs), calcium signaling, apoptosis, cancer, diabetes mellitus, ischemic heart disease, Alzheimer's disease.

**Введение.** Тромбоциты – клетки крови, образующиеся из мегакариоцитов и играющие главную роль в гемостазе, что является критическим для нормального функционирования кровеносной системы.

В настоящее время считается, что взаимодействие различных сигнальных путей и, соответственно, регуляция многочисленных функций в клетках осуществляются с участием мембранных контактов между органеллами (*membrane contact sites, MCS*). Наиболее

изученными являются **митохондриально-ассоциированные мембраны (MAMs)**, которые представляют собой области контакта митохондрий и эндоплазматического ретикулума толщиной около 10-25 нм. MAMs играют огромную роль в разнообразных клеточных процессах (метаболизм липидов, кальциевая клеточная сигнализация и биоэнергетика, митохондриальная динамика, фолдинг и деградация белков, поддержание редокс-баланса и апоптоз). MAMs являются плат-

формой для переноса различных веществ, включая ионы, липиды, активные формы кислорода (АФК), тем самым способствуя реализации их сигнальных механизмов. Прямого экспериментального подтверждения образования МАМs в тромбоцитах в настоящее время не получено, что может быть обусловлено необходимостью определенных условий формирования данных контактов в тромбоцитах, так как данные структуры крайне динамичны. Структурная реорганизация и изменения локализации внутриклеточных органелл, а также роль кальциевой сигнализации и митохондрий при активации тромбоцитов дают основание предположить возможное участие в данных процессах контактов между митохондриями и плотной трубчатой системой, которая представляет собой производное эндоплазматического ретикулаума (ЭПР) в тромбоцитах. Наличие такого компартмента в тромбоцитах способствует кальциевому сигнальному каскаду и контролю внутриклеточных процессов в тромбоцитах.

Цель работы – охарактеризовать возможные механизмы участия митохондриально-ассоциированных мембран и ее компонентов в функционировании тромбоцитов в норме и при патологических состояниях неинфекционной природы с использованием литературных данных и базы данных протеома тромбоцитов.

#### **Механизмы активации тромбоцитов.**

Активность тромбоцитов в первую очередь связана с инициацией коагуляционного каскада, основными этапами которого являются адгезия, активация и агрегация.

Первым этапом гемостаза является адгезия тромбоцита к внеклеточному матриксу или активированному эндотелию в результате структурного повреждения сосуда. Прикрепление к коллагену происходит благодаря гликопротеиновому (ГП) Ib-IX-V комплексу, который является мембранным рецептором (в частности, ГП Ib) фактора фон Виллебранда (ффВ), основным источником которого являются  $\alpha$ -гранулы тромбоцитов и эндотелиальные клетки кровеносных сосудов [1].

После адгезии тромбоцитов происходит закрепление (или распластывание) тромбоцитов, в котором участвуют мембранные рецепторы ГП Ia/IIa (интегрин  $\alpha_2\beta_1$ ) и ГП VI [2]. Коллаген взаимодействует с рецептором ГП VI тромбоцита, в результате чего происходит связывание данного комплекса с Fc-рецептором и каскадная активация тирозин-

киназ Src-семейства. Тирозинкиназа Syk в результате фосфорилирования по аминокислотным остаткам Tyr753 и Tyr759 активирует изоформу фосфолипазы PLC $\gamma$ 2, что приводит к мобилизации ионов кальция и аденозиндифосфата (АДФ) из плотной трубчатой системы (ПТС) и плотных гранул соответственно. ГП VI приводит к конформационным изменениям цитоплазматических доменов интегрин  $\alpha_2\beta_1$ , что увеличивает его сродство к коллагену. Интегрин  $\alpha_2\beta_1$  также, как и ГП VI, активирует фосфолипазу PLC $\gamma$ 2 через тирозинкиназу Syk, благодаря взаимодействию цитоплазматического «хвоста» с талином и киндлином-3, усиливая активационное действие друг друга.

После образования первичного слоя тромбоцитов и его закрепления на поврежденной поверхности сосуда инициируется процесс агрегации тромбоцитов, причем паттерн активации распространяется на интактные тромбоциты. Механизм агрегации тромбоцитов в первую очередь связан с гликопротеиновым комплексом **Ib/IIIa (интегрин  $\alpha_{IIb}\beta_3$ )** [2]. В интактных тромбоцитах низкоаффинная конформация интегрин  $\alpha_{IIb}\beta_3$  стабилизируется «застежкой», образованной последовательностью GFFKR в субъединице  $\alpha_{IIb}$  и мотивом HDRxE в субъединице  $\beta_3$ , что важно для предотвращения активации тромбоцитов. Цитоплазматическая сигнализация с участием G-белков (например, при действии тромбина) приводит к нарушению связей субъединиц в сайтах Arg995 и Asp723. Последующее разделение цитоплазматических «хвостов» интегрин вызывает аллостерическое изменение в сторону высокоаффинной конформации интегрин (механизм активации интегрин «изнутри-наружу») [3]. Важную роль здесь играет связывание цитоплазматического домена  $\beta_3$  интегрин с киндлином-3 и талином. Высокоаффинная конформация интегрин  $\alpha_{IIb}\beta_3$  позволяет ему связывать фибриноген и ффВ. В результате связывания через одну молекулу фибриногена с интегрин  $\alpha_{IIb}\beta_3$  соседних тромбоцитов происходит их агрегация, что создает возможность для передачи сигнала внутрь клетки (механизм «снаружи внутрь»).

Большинство растворимых агонистов, высвобождаемых активированными тромбоцитами, таких как АДФ, тромбоксан  $A_2$  ( $TxA_2$ ) и тромбин, взаимодействуют с соответствующими рецепторами через G-белковую систему, способствуя процессу активации тромбоцитов. Рецептором для тромбина яв-

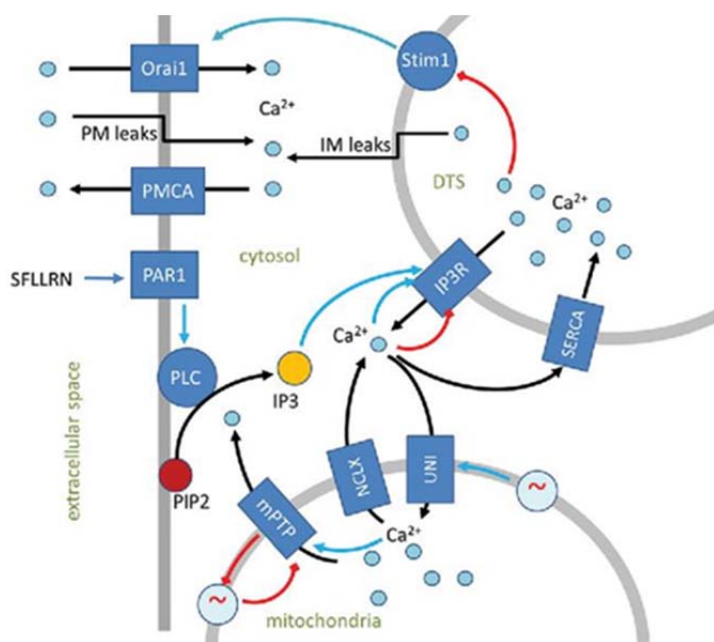
ляются протеазо-активированные рецепторы (PAR) на поверхности тромбоцитов. Рецепторами для АДФ, высвобождаемого из поврежденных эндотелиальных клеток и активированных тромбоцитов, являются  $P2Y_1$  и  $P2Y_{12}$  на поверхности тромбоцитов. В частности, рецептор  $P2Y_{12}$  поддерживает активацию тромбоцитов в ответ на АДФ и способствует полной активации интегрина  $\alpha_{IIb}\beta_3$ , играя центральную роль в этом процессе. Рецептором тромбосана  $A_2$  является TP, расположенный на поверхности тромбоцитов. ТхА<sub>2</sub> продуцируется и высвобождается активированными тромбоцитами, далее активируя другие тромбоциты и способствуя образованию тромбоцитарной пробки.

Другие агонисты, такие как адреналин, простагландин  $E_2$  и серотонин, также могут использовать рецепторы, сопряженные с G-белком для потенцирования реакции тромбоцитов.

#### Роль митохондрий в кальциевой сигнализации и функционировании тромбоцитов.

Ключевое значение во внутриклеточном повышении концентрации кальция в тромбоцитах играют вторичные мессенджеры ино-

зитол-1,4,5-трифосфат (ИФ3) и диацилглицерол (ДАГ). ИФ3 индуцирует высвобождение  $Ca^{2+}$  из внутриклеточных депо, в частности, воздействуя на рецепторы ИФ3 (IP3R-1 и IP3R-2, локализованные на мембране ПТС). Модуляция активности рецепторов ИФ3 происходит за счет фосфорилирования под действием различных типов протеинкиназ. ДАГ опосредует вход внеклеточного  $Ca^{2+}$  через транзитный рецепторный белок 6 (TRPC6) на плазматической мембране тромбоцитов. В свою очередь, высвобождение кальция из плотной трубчатой системы, а также из гранул запускает механизм SOCE (*store operated calcium entry*, депо-управляемый вход кальция). Данный механизм опосредован белками клеточной поверхности и мембран внутриклеточных депо тромбоцита: белок стромального взаимодействия 1 (STIM1), активируемый выпуском  $Ca^{2+}$  кальциевый канал 1 (Orai1), транзитный рецепторный белок 1 (TRPC1), пуринергический рецептор 1 ( $P2X_1$ ), TRPC6 и некоторые другие. На рисунке 1 отображены современные представления о кальциевом гомеостазе тромбоцитов.



Обозначения: extracellular space – внеклеточное пространство; cytosol – цитозоль; mitochondria – митохондрия; SERCA – саркоплазматическая/эндоплазматическая  $Ca^{2+}$ -АТФаза; IP3R – рецептор ИФ3; Stim1 – белок стромального взаимодействия 1; DTS – плотная трубчатая система (ПТС); UNI (MCU) – митохондриальный кальциевый унипортёр; NCLX – митохондриальный  $Na^+/Ca^{2+}$ -антипортёр; mPTP – митохондриальные поры высокой проницаемости; PLC – фосфолипаза; PIP2 – фосфатидилинозитолдифосфат; IP3 – инозитол-1,4,5-трифосфат; PAR1 – рецептор, активируемый протеазой 1; PMCA –  $Ca^{2+}$ -АТФаза плазматической мембраны; Orai1 – активируемый выпуском  $Ca^{2+}$  кальциевый канал 1; SFLLRN – пептид, активирующий рецептор тромбина; PM leaks – утечка кальция через плазматическую мембрану; IM leaks – утечка кальция через мембрану внутриклеточных депо.

Рисунок 1. – Современные представления о кальциевой сигнализации в тромбоцитах

Поскольку незначительное повышение уровня внутриклеточного кальция приводит к активации тромбоцитов, в покоящихся тромбоцитах существуют механизмы поддержания кальциевого гомеостаза клетки. К ним относятся: SERCA (саркоплазматическая/эндоплазматическая  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаза), PMCA (Ca<sup>2+</sup>-АТФазы плазматической мембраны) и MCU (митохондриальный кальциевый унипортёр). SERCA закачивает ионы кальция из цитоплазмы в ПТС, MCU приводит к аккумуляции кальция внутри митохондрий, а PMCA выводит его из клетки (см. рисунок 1) [28, 29]. Активность PMCA регулируется кальмодулином, протеинкиназами A и C, кислыми фосфолипидами и протеолизом. В покоящихся тромбоцитах выход  $\text{Ca}^{2+}$  из тромбоцитов через PMCA является основным способом регуляции внутриклеточного уровня кальция, тогда как при стимуляции тромбоцитов активация насосов SERCA предшествует активации насосов PMCA [4]. Через MCU переносятся ионы кальция в митохондрии. Вследствие низкого сродства MCU к кальцию (константа сродства  $K_m$  характеризуется значениями микромолярного диапазона) активация данного переносчика происходит только при высоких концентрациях кальция, которые могут быть достигнуты внутри клеток только локально в области MAMs.

Тромбоциты содержат 4-8 митохондрий нестандартной морфологии малого размера со слабо развитыми кристами. Предполагается, что такая организация митохондриальной сети тромбоцита является недостаточной для обеспечения энергетических процессов тромбоцитов и, вероятно, митохондрии дополнительно участвуют в регуляции клеточных процессов. Протекание этих процессов, вероятно, может быть обусловлено связыванием митохондрий тромбоцитов с ПТС, хотя на данный момент это экспериментально еще не доказано.

Известно, что при активации тромбоцитов наблюдается их разделение на две субпопуляции. Одна субпопуляция, называемая фосфатидилсерин (ФС)-отрицательной, состоит из живых, амёбообразных, хорошо агрегирующих тромбоцитов без ФС на их поверхности. Другая субпопуляция ФС-положительных тромбоцитов включает в себя баллонные мертвые клетки с экстернализованным ФС, обладающая плохой способностью к агрегации и адгезии, но при этом

содержащая много сайтов для прикрепления факторов свертывания крови. Ключевым механизмом образования таких ФС-положительных популяций тромбоцитов является увеличение уровня митохондриального кальция, который поступает через MCU. Увеличение концентрации кальция приводит к открытию пор высокой проницаемости (mPTP) по циклофилин D-зависимому механизму. В результате этого наблюдается образование АФК. Предполагается, что окисленные ФС активными формами кислорода, а также выход митохондриального цитохрома С приводят к экстернализации ФС [5].

Открытие mPTP обратимо и распространяется асинхронно и нелинейным образом среди митохондрий, что также оказывает влияние на степень экспозиции ФС и дальнейшую активность тромбоцитов. Учитывая сложность сигнальных путей кальция в тромбоцитах, многостороннее участие митохондрий в процессах активации тромбоцитов и связанные с этим возможные нарушения работы системы гемостаза, можно предположить, что существуют механизмы кальциевой регуляции тромбоцитов с участием митохондрий посредством образования контактов между митохондриями и ПТС.

#### **Вероятные механизмы участия митохондриально-ассоциированных мембран в функционировании тромбоцитов.**

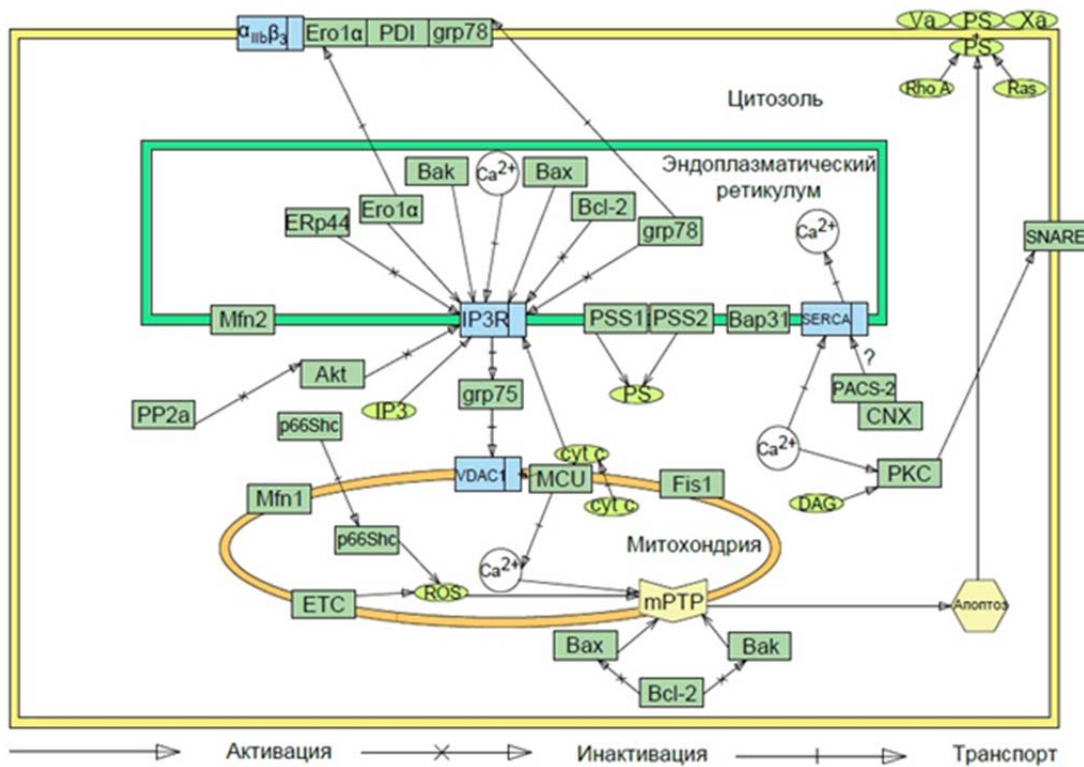
MAMs могут быть вовлечены в функционирование тромбоцитов в результате взаимодействия ПТС и митохондрий при реализации кальциевого сигнального каскада. Опираясь на базу данных протеома тромбоцитов PlateletWeb и литературные данные по каскадам активации тромбоцитов нами предлагается модель участия MAMs и их отдельных структурных и функциональных белковых компонентов в кальциевой сигнализации и функционировании тромбоцитов.

Белковые молекулы, входящие в состав MAMs, разделяют на две группы, которые обеспечивают структурную организацию и функциональную активность данных внутриклеточных компартментов. Физическое связывание ЭПР и митохондрий осуществляется главным образом за счет белков **митофузинов 1 и 2**. Как правило, mitoфузины локализованы на внешней митохондриальной мембране и выполняют функцию гуанозинтрифосфатаз (ГТФаз), участвующих в процессах митохондриальной динамики. Несмотря на то, что MAMs в тромбоцитах не изучены,

показана экспрессия митофузинов в тромбоцитах. Кроме того, еще одним из «якорных» белков МАМs клеток млекопитающих, который обнаружен в тромбоцитах, является **белок, ассоциированный с В-клеточным рецептором (Var31), который связывается с митохондриальным белком деления 1 (Fis1), участвующим в митохондриальной динамике клеток, что удерживает эти две органеллы в едином компартменте [6].** На рисунке 2 показана модель участия основных белков МАМs в клетках млекопитающих и в тромбоцитах.

Помимо структурных связей в образовании МАМs участвует целый ряд белков, обеспечивающий реализацию функций данных контактов, экспрессия которых показана

в тромбоцитах. В настоящее время в качестве основной функции МАМs принято считать контроль внутриклеточной концентрации кальция. В клетках эукариот передачу кальция в митохондрии через МАМs осуществляет тройной комплекс, состоящий из рецептора инозитолтрифосфата (IP3R), находящегося в мембране ЭПР, глюкозо-регулируемого белка 75 (grp75) в межмембранном пространстве и потенциал-зависимого анионного канала 1 (VDAC1), находящегося на внешней мембране митохондрий (рисунок 2). В активации функциональных белков МАМs, связанных с внутриклеточным обменом кальция, важную роль играют вторичные мессенджеры ДАГ и ИФ3.



Обозначения:  $\alpha_{IIb}\beta_3$  – интегрин IIb/IIIa; Ero1 $\alpha$  – оксидоредуктин; PDI – дисульфидизомераза; grp78 – глюкозо-регулируемый белок 78; grp75 – глюкозо-регулируемый белок 75; Va, Xa – факторы свёртывания крови V и X; Rho A – Ras-подобный белок A; Ras – ГТФаза Ras-семейства; ERp44 – резидентный белок эндоплазматического ретикулума 44; Bcl-2 – белок В-клеточной лимфомы 2; Bak – Bcl-2-гомологичный антагонист; Bax – Bcl-2-ассоциированный белок X; IP3R – рецептор инозитолтрифосфата; PSS 1 и 2 – фосфатидилсинтазы 1 и 2; Var31 – ассоциированный с В-клеточным рецептором белок 31; SERCA – саркоплазматическая/эндоплазматическая Ca<sup>2+</sup>-АТФаза; PACS-2 – фосфофуриновый кластерный белок 2; CNX – кальнексин; PKC – протеинкиназа C; SNARE – рецепторы растворимого N-этилмалеимид-чувствительного фактора прикрепления белка; VDAC1 – потенциал-зависимый анионный канал 1; Akt – протеинкиназа B; p66Shc – изоформа 66 белка Shc A; PP2a – фосфатаза 2; Mfn 1 и 2 – митофузины 1 и 2, IP3 – инозитолтрифосфат, ETC – электрон-транспортная цепь, cyt c – цитохром c, DAG – диацилглицерол, PS – фосфатидилсерин, ROS – активные формы кислорода; Fis1 – митохондриальный белок деления 1.

**Рисунок 2. – Модель участия митохондриально-ассоциированных мембран в клетках млекопитающих и тромбоцитах**

В тромбоцитах они образуются в результате функциональной активности фосфолипаз С $\beta$  и С $\gamma$ , а также киназы PI3K, которые активируются под действием Src-подобных киназ при взаимодействии коллагена с GPIIb/IIIa и интегрином  $\alpha_2\beta_1$  и системы G-белков при действии агонистов (тромбин, АДФ).

В результате фосфорилирования фосфатидилинозитола (ФИ) на внутренней поверхности мембраны под действием киназы PI3K происходит образование фосфатидилинозитолтрифосфата (ФИФ3) [7]. ФИФ3 обеспечивает связывание протеинкиназы В (Akt) с клеточной мембраной, что делает доступными её сайты T308 и S473 для фосфорилирования киназами PDK-1 и -2, соответственно. В результате Akt переходит в активную конформацию и перемещается в цитозоль, в том числе в область вероятного контакта митохондрий и ПТС.

Ключевыми мишенями для ИФ3 и Akt являются IP3R рецепторы на мембране ПТС, которые являются основным каналом поступления кальция из внутриклеточных депо в цитозоль. В интерфейсе MAMs эукариотических клеток Akt способен фосфорилировать IP3R, приводя к закрытию канала, и, соответственно, уменьшению притока кальция в цитоплазму. Действие данной киназы обратно по отношению к действию ИФ3, так как препятствует притокам кальция в митохондрии и служит регулятором этого процесса. **Фосфатаза 2 (PP2a)** способна связываться с Akt в цитозоле и инактивировать ее, модулируя таким образом активацию или инактивацию IP3R и дальнейшие потоки кальция. В тромбоцитах PP2a также может связываться с интегрином  $\alpha_{IIb}\beta_3$ , модулируя его действие. Помимо IP3R в интерфейсе MAMs протеинкиназа Akt может активировать **фосфофуриновый кислый белок-2 (PACS-2)**, связанный с шапероном **кальнексином (CNX)**. PACS-2 в отсутствие CNX связывается с SERCA для его инактивации и блокировки закачивания кальция в ЭПР. Суммируя вышесказанное, можно предполагать наличие подобного пути несмотря на то, что на данный момент не установлено присутствие PACS-2 или подобного ему белка в тромбоцитах. Остальные участники вышеописанных процессов найдены в тромбоцитах.

Следствием повышения уровня кальция в митохондриях является активация дегидрогеназ цикла Кребса, что приводит к повышенной выработке восстановленных кофер-

ментов, активации электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) и усиленной выработке аденозинтрифосфата (АТФ) для поддержания функции тромбоцитов при их активации, а также это стимулирует генерацию АФК митохондриями.

Кроме того, вследствие невозможности аккумуляции значительного количества кальция в митохондриях тромбоцитов в результате их малого количества в клетке, поглощение кальция митохондриями тромбоцитов ограничено по сравнению с другими клетками. Результатом этого является быстрое повышение уровня кальция в цитозоле в ответ на стимулы. Накопление кальция в цитоплазме является важнейшим триггером для дальнейших процессов активации тромбоцитов, включая секрецию гранул, изменение формы тромбоцитов, синтез тромбоксана А<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>), что в итоге приводит к агрегации тромбоцитов и образованию тромба. В тромбоцитах существует три типа гранул:  $\alpha$ -гранулы, содержащие адгезивные белки (фибриноген, фибронектин, витронектин, фактор фон Виллебранда, тромбоспондин); плотные гранулы, содержащие АДФ, АТФ, серотонин, кальций, пиродифосфат и полидифосфат; лизосомы, содержащие протеолитические ферменты и Т-гранулы, которые, вероятно, содержат Толл-подобный рецептор (TLR9), белок-сульфидную изомеразу (PDI) и ассоциированный с мембранными везикулами белок 8 (VAMP-8). Накопление кальция в цитоплазме и присутствие DAG приводит к активации **протеинкиназы С (PKC)**. PKC способна фосфорилировать **белки группы SNARE** (рецепторы растворимого N-этилmaleимид-чувствительного фактора прикрепления белка) на поверхности гранул и принимает непосредственное участие в экзоцитозе гранул всех типов. Активация белков SNARE, в том числе и VAMP-8, а также участие элементов цитоскелета (актин, миозин) приводит к централизации гранул, а в дальнейшем их перемещению к поверхности тромбоцитов с высвобождением содержимого гранул наружу при помощи механизма слияния мембран [8]. Более того, считается, что в  $\alpha$ -гранулах содержатся мембранные белки (P-селектин, интегрин  $\alpha_{IIb}\beta_3$ ), которые переносятся на поверхность тромбоцитов и участвуют в дальнейших путях активации и агрегации тромбоцитов [8].

Содержание кальция в цитозоле и RhoA-зависимый путь активации обеспечивает из-

менение цитоскелета тромбоцитов с изменением формы клеток. На активацию цитоскелета и дальнейшее изменение формы тромбоцитов могут влиять и активные формы кислорода, образующиеся в ЭТЦ митохондрий или ЭПР. Более того, в генерации АФК большую роль играет **изоформа 66 белка Shc A (p66Shc)**, которая локализована в митохондриях. Данный белок также локализуется в МАМs различных клеток и непосредственно связан с выработкой АФК при транслокации данного белка из цитозоля в митохондрии. В тромбоцитах p66Shc также экспрессируется и ответственен за генерацию АФК, и, следовательно, может принимать участие в сигнальном пути, связанным с МАМs.

Шапероны и оксидоредуктазы участвуют в сигнализации кальция в интерфейсе МАМs клеток млекопитающих. Например, **оксидоредуктазы Ero1a и ERp44** могут непосредственно связываться с IP3R и в случае Ero1a активировать его, а в случае ERp44 – инактивировать, что приводит к высвобождению или удержанию кальция в ЭПР. **Шаперон grp78** также способен инактивировать IP3R в интерфейсе митохондриально-ассоциированных мембран. Возможно, такие процессы имеют место и в тромбоцитах, так как все участники данного процесса экспрессируются в тромбоцитах.

На активацию интегрин  $\alpha_{IIb}\beta_3$  влияет протеинкиназа Akt, а также белки-шапероны и оксидоредуктазы, которые локализованы в просвете ПТС тромбоцитов. Обычно белки-шапероны выполняют двойные функции в тромбоцитах – это модулирование активации тромбоцитов посредством взаимодействия с интегрином и (или) тканевым фактором на поверхности тромбоцитов, или участие в регуляции стресса эндоплазматического ретикулума (ЭПР-стресса) и нормального фолдинга белка внутри тромбоцитов. Оксидоредуктин Ero1a может быть связан с мембраной тромбоцитов и локализуется с **дисульфидизомеразой PDI** и интегрином  $\alpha_{IIb}\beta_3$ . Экспрессия Ero1a увеличивается в ходе активации тромбоцитов, причем он становится источником окислительных эквивалентов для PDI для дальнейшей перестройки интегрин. Оксидоредуктаза ERp44 также может выходить на поверхность тромбоцитов в процессе активации. Ингибирование таких белков может вызвать активацию и последующую агрегацию тромбоцитов. Шапероны grp75 и grp78 также экспрессируются в тромбоцитах

и могут выходить на поверхность тромбоцитов, регулируя их интегрин-зависимую активацию путем воздействия на сигнализацию интегрин  $\alpha_{IIb}\beta_3$ . Учитывая открытие, что Т-гранулы содержат PDI, скорее всего, они могут содержать и другие шапероны, которые, высвобождаясь на поверхность тромбоцитов в ходе секреции Т-гранул, могут там же оказывать влияние на перестройку интегрин  $\alpha_{IIb}\beta_3$ . Таким образом, шапероны и оксидоредуктазы при активации тромбоцитов могут действовать на двух уровнях: воздействием на интегрин  $\alpha_{IIb}\beta_3$  и, возможно, на IP3R цистерн ПТС.

Тромбоциты, активированные в незначительной степени, возникают с участием интегринов и характеризуются измененной формой и секрецией гранул [9]. В свою очередь, сильно активированные тромбоциты помимо перечисленных факторов характеризуются появлением прокоагулянтной поверхности тромбоцитов, что обозначает экспонирование факторов, участвующих в усилении реакций, приводящих к полимеризации фибрина. Такой ответ способны вызывать только тромбин и коллаген, и такие тромбоциты обычно называют «укутанными» (coated). Появление такой субпопуляции тромбоцитов приводит к экспонированию фосфатидилсерина на поверхности клеток. Экстернализованный ФС на поверхности тромбоцитов образует протромбиназный комплекс с факторами Ха и Va, таким образом, опосредуя синтез тромбина из протромбина во время свертывания крови. Более того, экспозиция ФС показана и в апоптотических путях ядродержащих клеток, где данный процесс может быть связан с накачкой кальция в митохондрии. Данный процесс связан с апоптозом и участием МАМs клеток млекопитающих. При активации тромбоцитов происходит поглощение  $Ca^{2+}$  митохондриями. В клетках млекопитающих данный процесс происходит через тройной комплекс IP3R-grp75-VDAC1 с образованием mPTP. Цитохром, высвобождающийся из митохондрий, связывает IP3R и открывает каналы для кальция [10]. Тромбоцитарный Bcl-XL способен инактивировать IP3R, и, напротив, белки Bax и Bak действуют обратным образом. Далее с помощью факторов Rho A и Ras (ГТФазы) происходит активация фосфатидисерина.

Помимо процесса экстернализации, МАМs эукариотических клеток участвует и в механизмах синтеза и транспорта липидов, в частности, ФС. В тромбоцитах обнаружены

два фермента, ответственные за синтез ФС – **фосфатидилсерин синтазы 1 и 2 (PSS1, PSS2)**. Синтез ФС и его регуляция практически полностью осуществляется при участии митохондриально-ассоциированных мембран, и это показано на разных клеточных линиях. Предполагается, что ФС тромбоцитов синтезируется в мегакариоцитах, более того, возможно, весь липидный профиль переносится в тромбоциты при их формировании. Наиболее важный липидный маркер МАМs для синтеза липидов – **лигаза жирных кислот-КоА 4 (FACL4)**. Данный фермент преобразует длинноцепочечные жирные кислоты в жирные эфиры ацил-КоА и служит как ключевой фермент, вовлеченный в метаболизм арахидоновой кислоты. Данный фермент локализован главным образом в области МАМs [11]. В тромбоцитах данный фермент также найден и вовлечен в контроль уровня арахидоновой кислоты. При этом важно подчеркнуть, что арахидоновая кислота является предшественником тромбксана  $A_2$  – важнейшего участника активации тромбоцитов.

#### **Механизмы участия МАМs тромбоцитов в неинфекционных патологических процессах**

Продемонстрировано участие тромбоцитов в развитии ряда патологических состояний (атеросклероз и сердечно-сосудистые заболевания, воспаления и метаболические нарушения, рак и нейродегенеративные заболевания). При этом большинство перечисленных заболеваний связано с нарушением функционального состояния митохондрий и митохондриально-ассоциированных мембран в различных типах клеток [12].

При развитии сердечно-сосудистых заболеваний, в частности, ишемической болезни сердца (ИБС), важную роль играет антигенная структура и количество тромбоцитов в крови. У пациентов с ИБС выявляется большое количество тромбоцитов с более высоким уровнем экспрессии маркеров активации тромбоцитов. При ИБС наблюдается гиперактивация тромбоцитов, связанная с течением воспалительных процессов и выделением протромботических факторов (например, тканевой фактор) при развитии атеросклероза. Данные процессы гиперреактивности приводят к образованию тромбов в месте атеросклеротической бляшки. Накопление липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) или провоспалительные факторы активированных тромбоцитов (например, интерлейкин  $IL-1\beta$ ) являются индукторами активации

клеток эндотелия. Это является сигналом для вовлечения тромбоцитов в процесс развития атеросклеротической бляшки. Скорее всего, возможное участие митохондрий и МАМs тромбоцитов связано с быстрым запуском активации, в первую очередь, путём накопления кальция митохондриями. В дальнейшем такое тромбообразование может стимулировать развитие ИБС.

Одним из осложнений сахарного диабета является патологическое тромбообразование, которое связано с гиперактивацией и гиперагрегацией тромбоцитов. При гиперактивации в тромбоцитах показана повышенная продукция АФК и изменение мобилизации кальция. АФК может изменять функции тромбоцитов разными способами, в частности, путём мобилизации  $Ca^{2+}$  и повышения его уровня в цитоплазме [13]. Также показано, что пероксид водорода, который образуется в результате действия митохондриальной супероксиддисмутазы, может действовать как вторичный посредник, стимулируя высвобождение арахидоновой кислоты и активацию фосфолипазы С, что ведёт к активационным процессам в тромбоцитах. Опосредованные окислительным стрессом повреждения митохондрий тромбоцитов в результате перегрузки кальцием вносят значительный вклад в усиление тромбоза. Также в развитии диабета с участием тромбоцитов огромную роль играет инсулинорезистентность. Показано, что в норме инсулин имеет прямой ингибиторный эффект на агрегационную способность тромбоцитов. В то же время, диабетические тромбоциты характеризуются развитием инсулинорезистентности, что связано со снижением количества рецепторов инсулина и их аффинности, что способствует активации тромбоцитов и повышенной агрегационной способности.

Доказано, что, в развитии инсулинорезистентности ключевое значение имеют изменения физические взаимодействия митохондрий и ЭПР клеток млекопитающих. В свою очередь, изменения митохондриального поглощения кальция из ЭПР приводят к нарушению сигнализации инсулина [14]. Кроме того, важным сигнальным белком, опосредующим метаболические эффекты инсулина, является протеинкиназа Akt, которая также активно участвует в образовании и функционировании МАМs. Обработка инсулином увеличивает взаимодействие между Akt и рецептором ИФ3, что свидетельствует о том, что инсулин, возможно, способен индуциро-



вать переход Akt в MAMs различных клеток. Также известно, что у больных сахарным диабетом наблюдается повышенная экспрессия митофузина 2, что связано с повышенной чувствительностью к инсулину. Нельзя не отметить, что белок, отвечающий за продуцирование АФК p66Shc, обнаруживающийся в MAMs, также отвечает за гиперактивацию тромбоцитов. Это может быть ключом к пониманию действия АФК при развитии сахарного диабета [15].

Не менее интересна роль тромбоцитов и MAMs в прогрессировании различных видов рака. Тромбоциты способны присоединяться к опухолевым клеткам посредством различных рецепторов клеточной поверхности при проникновении опухолевых клеток в кровяное русло. Также тромбоциты могут распознавать и реагировать на циркулирующие побочные продукты опухолевых клеток и инициировать каскад свертывания крови, в частности, через выработку тромбина или активации PAR-рецепторов как на тромбоцитах, так и на опухолевых клетках. Поскольку тромбоциты выполняют свою нормальную гемостатическую функцию при опухолевой трансформации, они, как правило, инициируют протромботические события, способствующие прогрессированию рака. Тромбоциты защищают циркулирующие опухолевые клетки, заключая опухолевые клетки в тромб, тем самым предотвращая их цитолиз под действием нормальных киллеров. Секрета α-гранулами тромбоцитов ффВ, интегринов α<sub>v</sub>β<sub>3</sub>, α<sub>v</sub>β<sub>3</sub>, Р-селектина, тромбоспондина и фибронектина стимулирует и усиливает адгезивные взаимодействия между опухолевыми клетками, заключенными в тромб и субэндотелиальными компонентами внеклеточного матрикса. Высвобождение факторов роста (например, тромбоцитарный фактор роста (PDGF), эпидермальный фактор роста (EGF), гепатоцитарный фактор роста (HGF)) из α-гранул при образовании ассоциаций между опухолевыми клетками и тромбоцитами стимулирует рост опухолевых клеток и ангиогенез. Кроме того, высвобождение содержимого плотных гранул (кальций, АДФ и другие компоненты) обуславливает прогрессирование каскада агрегации и, соответственно, опухоли.

Ранее продемонстрировано, что модулирование белков, вовлеченных в функционирование MAMs различных клеток, а также кальциевой сигнализации при развитии опухолей, может приводить к повышенной вы-

живаемости клеток опухоли. Поток Ca<sup>2+</sup> к митохондриям через MCU является решающим для канцерогенеза и истощение MCU способствует прогрессированию и метастазированию опухоли. На развитие опухоли влияют компоненты MAMs, связанные с окислительным стрессом. Так, в клетках рака молочной железы экспрессия оксидоредуктина Ego1α коррелирует с экспрессией лиганда запрограммированной смерти клеток PD-L1 и способствует апоптозу клеток [16]. Более того, известно, что повышенная генерация АФК приводит к прогрессированию различных типов рака, так как клеточная сигнализация в опухолевых клетках требует определенных концентраций АФК, уровень которых регулируется и MAMs.

Другим механизмом участия MAMs в онкогенезе является предотвращение процессов апоптоза, что значительно увеличивает выживаемость опухолевых клеток. В частности, это связано с тем, что антиапоптотические белки Bcl-2-семейства обладают способностью связываться с IP3R всех трех изоформ, при этом уменьшая приток кальция в митохондрии и усиливая жизнеспособность клеток опухоли [17]. Функциональное состояние тромбоцитов является важнейшим маркером развития рака самой разной природы. Учитывая вышеописанные процессы прогрессирования рака с участием тромбоцитов, вероятно, наличие MAMs в тромбоцитах могло бы влиять на тромбообразование в контексте прогрессирования опухолей путём повышения выживаемости опухолевых клеток благодаря инактивации рецептора ИФ3.

Еще одной из активно развивающихся областей исследования является изучение участия тромбоцитов в механизмах развития нейродегенеративных процессов, в частности, болезни Альцгеймера. Известно, что тромбоциты обладают ферментативной активностью для генерации амилоида β (Aβ). На данный момент тромбоциты считаются одним из основных биомаркеров для ранней диагностики болезни Альцгеймера. Более того, тромбоциты экспрессируют **пресенилин 1 (PS1)** – важнейший белок, участвующий в молекулярных механизмах болезни Альцгеймера. Обработка тромбоцитов амилоидом β приводит к активации тромбоцитов и усиленному образованию АФК, которые сопровождаются апоптозом. Более того, тромбоциты модулируют преобразование растворимого Aβ в фибриллярные структуры. Важными факторами, влияющими на про-

грессирование болезни Альцгеймера, являются гетерогенность и ультраструктурные аномалии тромбоцитов. Исследования показали, что функционирование MAMs разных клеток также вносит свою лепту в развитие нейродегенеративных заболеваний. Так, в участках MAMs обнаружены пресенилины 1 и 2 (PS1, PS2), предшественник амилоида  $\beta$  (APP) и  $\gamma$ -секретаза. При этом в клетках с дефицитом митофузина 2 и сниженной функцией MAMs ферментативная активность  $\gamma$ -секретазы снижена на 50%. Кроме того, показано, что пресенилины 1 и 2 взаимодействуют с IP3R в области MAMs, что приводит к повышению переноса кальция из ЭПР в митохондрии, что сопровождается усилением расщепления APP [18]. Учитывая способность тромбоцитов к полимеризации А $\beta$ , возможно, нарушения сигнализации PS1 и PS2 в интерфейсе MAMs в тромбоцитах играют важную роль в развитии болезни Альцгеймера.

**Заключение.** Исключительная роль тромбоцитов заключается в том, что они являются главным компонентом системы гемостаза и их функционирование критично для работы всей кровеносной системы, в то же время тромбоциты вовлечены в развитие ряда патологических состояний (рак, сахарный диабет, нейродегенеративные процессы). Многие сигнальные каскады тромбоцитов связаны с кальцием. Избыточная концентрация кальция в цитозоле способствует активации тромбоцитов. Перенасыщение кальцием митохондрий с последующей генерацией АФК приводит к запуску апоптоза, результатом чего является экстернализация фосфатидилсерина – важного этапа масштабирования активационных процессов в популяции тромбоцитов. Нами показано, что АФК и уровень кальция в митохондриях регулируется многими белками, которые в других клеточных линиях принимают непосредственное участие в формировании и функционировании MAMs. Например, во многих клетках млекопитающих реализуется путь передачи кальция из ЭПР в митохондрии посредством MAMs. Кальций переносится через тройной комплекс IP3R-grp75-VDAC1 с участием MCU в митохондриях, запуская тем самым путь апоптоза, с образованием mPTP и дальнейшей экстернализацией ФС.

Более того, кальциевая сигнализация непосредственно влияет на пути секреции гранул и изменение формы тромбоцитов, что имеет огромное значение при агрегации

тромбоцитов и образовании тромба. Практически все белковые компоненты MAMs, участвующие в сигнализации кальция и апоптотических путях экспрессируются в тромбоцитах.

Нарушение кальциевой сигнализации в тромбоцитах может привести к ряду патологических процессов с участием тромбоцитов. Гиперактивация тромбоцитов, вызванная усилением притоков кальция в митохондрии и действием АФК, следствием чего является открытие mPTP и запуск апоптоза, способна вызвать осложнения таких заболеваний, как ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет и рак. Например, в развитии сахарного диабета огромную роль играет гиперактивация тромбоцитов, более того, тромбоциты сами по себе являются сайтами для процессов инсулинорезистентности. Гиперагрегация тромбоцитов при раке, вызванная изменением сигнализации кальция, способствует прогрессированию и метастазированию опухоли. Тромбоциты в последнее время стали маркерами болезни Альцгеймера, так как имеют ферментативную активность по отношению к генерации А $\beta$  и в тромбоцитах найден пресенилин 1 – важнейший белок, участвующий в молекулярных механизмах болезни Альцгеймера.

Нарушение целостности MAMs, а также работы ее компонентов могут влиять на развитие различных заболеваний (ИБС, сахарный диабет, рак и др.). Нарушение сигнализации кальция может способствовать выживаемости и метастазированию опухоли. Компоненты MAMs могут влиять на инсулинорезистентность. Например, взаимодействие протеинкиназы Akt и рецептора ИФЗ может моделироваться инсулином, что говорит об участии белков MAMs в развитии инсулинорезистентности. Вместе с тем сами тромбоциты – сайты инсулинорезистентности, так как содержат рецепторы инсулина на своей поверхности. Киназа Akt экспрессируется в тромбоцитах и, возможно, могла бы выполнять те функции, которые она выполняет в MAMs других эукариотических клеток, модулируя IP3R в зависимости от наличия или отсутствия инсулина. Наконец, в MAMs найден пресенилин 1 – важнейший участник развития болезни Альцгеймера. Он также может связываться с рецептором ИФЗ и модулировать потоки кальция. Все эти данные говорят о том, что в тромбоцитах найдены практически все участники сигнального пу-

ти, связанного с МАМs других клеток, и пути их функционирования схожи.

Таким образом, проведенный нами анализ источников литературы и базы данных протеома тромбоцитов позволил теоретически обосновать и смоделировать участие митохондрий путем формирования МАМs в различных процессах функционирования тромбоцитов в норме и при патологии, что создает предпосылки для экспериментальной верификации наличия данного компартмента в тромбоцитах.

*Исследования проведены при финансовой поддержке Министерства образования Республики Беларусь (договор № 65 от 05.05.2021 г.).*

### Список литературы

1. Zaverio, M. R. Adhesion Mechanisms in Platelet Function / M. R. Zaverio, G. L. Mendolicchio. – Circ. Res. 2007. – Т. 100. – No. 12. – С. 1673-1685.
2. Мембранные рецепторы тромбоцитов: функции и полиморфизм / Е.Н. Воронина [и др.]. – Новосибирск: Вестник ВОГиС, 2006. – С. 554.
3. Kim, C. Ye F. Regulation of integrin activation / C. Ye F Kim, M. H. Ginsberg // Annual Review of Cell and Developmental Biology. 2011. – Т. 27. – No. 7. – С. 321-345.
4. Redondo, P.C. Collaborative effect of SERCA and PMCA in cytosolic calcium homeostasis in human platelets / P.C. Redondo [и др.] // J Physiol Biochem. 2005. – Т. 61. – С. 507-516.
5. Jiang, J. Peroxidation and externalization of phosphatidylserine associated with release of cytochrome c from mitochondria / J. Jiang [и др.] // Free Radical Biology and Medicine. 2003. – Т. 35. – No. 7. – С. 814-825.
6. Liu, Y. Endoplasmic reticulum-mitochondria tethering in neurodegenerative diseases / Y. Liu, X. Zhu– Translational Neurodegeneration. 2017. – Т. 6. – No. 21.
7. Lian, L. The relative role of PLC $\beta$  and PI3K $\gamma$  in platelet activation / L. Lian [и др.]. – Blood 2005. – Т. 105. – No. 1. – С. 110-117.
8. Heijnen, H. Platelet secretory behaviour: as diverse as the granules ... or not? / H. Heijnen, P. van der Sluijs // J Thromb Haemost. 2015. – Т. 13. – No. 12. – С. 2141-2151.
9. Шатурный, В. И. Активаторы, рецепторы и пути внутриклеточной сигнализации в тромбоцитах крови / В. И. Шатурный [и др.]. – Москва: Биомедицинская химия. – Т. 60. – Вып. 2, С. 182-200.
10. Boehning D. Apoptosis and calcium: new roles for cytochrome c and inositol 1,4,5-trisphosphate / D. Boehning, R.L. Patterson, S.H. Snyder // Cell Cycle. 2004. –Т. 3. – No. 3. – С. 252-254.
11. Piccini, M. FACL4, a new gene encoding long-chain acyl-CoA synthetase 4, is deleted in a family with Alport syndrome, elliptocytosis, and mental retardation / M. Piccini [и др.] // Genomics. 1998. – Т. 47. – No. 3. – С. 350-358.
12. Missiroli, S. Mitochondria-associated membranes (МАМs) and inflammation / S. Missiroli [и др.]. Cell Death & Disease 2018. – Т. 9. – No. 329.
13. Haouari, M. E. Platelet signalling abnormalities in patients with type 2 diabetes mellitus: A review / M.E. Haouari, J.A. Rosado // Blood Cells, Molecules, and Diseases. 2008. – Т. 41. – С. 119-123.
14. Gutierrez, T. Alteration in mitochondrial Ca<sup>2+</sup> uptake disrupts insulin signaling in hypertrophic cardiomyocytes / T. Gutierrez [и др.] // Cell Commun. Signal. – 2014. – Т. 12. – С. 68-81.
15. Galimov, E.R. The Role of p66shc in Oxidative Stress and Apoptosis / E.R. Galimov // Acta Naturae. – 2010. – Т. 2. – No. 4. – С. 44-51.
16. Tanaka, T. Cancer-associated oxidoreductase ERO1-alpha promotes immune escape through up-regulation of PD-L1 in human breast cancer / T. Tanaka [и др.] // Oncotarget. 2017. – Т. 8. – No. 15. – С. 24706-24718.
17. Lewis, A. Bcl-2 family in inter-organelle modulation of calcium signaling; roles in bioenergetics and cell survival / A. Lewis [и др.] // J Bioenerg. Biomembr. – 2014. – Т. 46. – No. 1. – С. 1-15.
18. Cheung, K-H.H. Mechanism of Ca<sup>2+</sup> disruption in Alzheimer's disease by presenilin regulation of InsP3 receptor channel gating / K-H.H. Cheung [и др.] // Neuron. – 2008. – Т. 58. – С. 871-883.

### References

1. Zaverio M. R., Mendolicchio G. L. Adhesion Mechanisms in Platelet Function. Circ. Res. 2007, vol. 100, no. 12, pp. 1673-1685.
2. Membranny`e receptory` trombocitov: funkcii i polimorfizm / E.N. Voronina [i dr.]. – Novosibirsk: Vestnik VOGiS, 2006. – S. 554 (In Russian)

3. Kim C, Ye F, Ginsberg M. H. Regulation of integrin activation. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 2011, vol. 27, no. 7, pp. 321-345.
4. Redondo P.C., Rosado J. A., Pariente J.A., Salido G.M. Collaborative effect of SERCA and PMCA in cytosolic calcium homeostasis in human platelets. *J Physiol Biochem*. 2005, vol. 61, pp. 507-516.
5. Jiang J., Serinkan B.F., Tyurina Y.Y., Borisenko G.G., Mi Z., Robbins P.D., Schroit A.J., Kagan V.E. Peroxidation and externalization of phosphatidylserine associated with release of cytochrome c from mitochondria. *Free Radical Biology and Medicine*. 2003, vol. 35, no. 7, pp. 814-825.
6. Liu Y., Zhu X. Endoplasmic reticulum-mitochondria tethering in neurodegenerative diseases. *Translational Neurodegeneration*. 2017, vol. 6, no. 21.
7. Lian L., Wang Y., Draznin J., Eslin D., Bennett J.S., Poncz M., Wu D., Abrams Ch.S. The relative role of PLC $\beta$  and PI3K $\gamma$  in platelet activation. *Blood* 2005, vol. 105, no. 1, pp. 110-117.
8. Heijnen H., van der Sluijs P. Platelet secretory behaviour: as diverse as the granules ... or not? *J Thromb Haemost*. 2015, vol. 13, no. 12, pp. 2141-2151
9. Shaturny`j, V.I. Aktivatory`, receptory` i puti vnutriklektchnoj signalizacii v trombocitax krovi / V.I. Shaturny`j [i dr.]. – Moskva: *Biomedicinskaya ximiya*. – T. 60. – Vy`p. 2, S. 182-200 (In Russian)
10. Boehning D., Patterson R.L., Snyder S.H. Apoptosis and calcium: new roles for cytochrome c and inositol 1,4,5-trisphosphate. *Cell Cycle*. 2004, vol. 3, no. 3, pp. 252-254.
11. Piccini M., Vitelli F., Bruttini M., Pober B.R., Jonsson J.J., Villanova M. *FACL4*, a new gene encoding long-chain acyl-CoA synthetase 4, is deleted in a family with Alport syndrome, elliptocytosis, and mental retardation. *Genomics*. 1998, vol. 47, no. 3, pp. 350-358.
12. Missiroli S. [and etc.]. Mitochondria-associated membranes (MAMs) and inflammation. *Cell Death & Disease* 2018, vol. 9, no. 329.
13. Haouari M.E., Rosado J.A. Platelet signaling abnormalities in patients with type 2 diabetes mellitus: A review. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2008, vol. 41, pp. 119-123.
14. Gutierrez T., Parra V., Troncoso R., Penanen C., Contreras-Ferrat A., Vasquez-Trincado C., Morales P.E., Lopez-Crisosto C., Sotomayor-Flores C., Chiong M., Rothmel B.A., Lavandero S. Alteration in mitochondrial Ca<sup>2+</sup> uptake disrupts insulin signaling in hypertrophic cardiomyocytes. *Cell Commun. Signal*. 2014, vol. 12, pp. 68-81.
15. Galimov E.R. The Role of p66shc in Oxidative Stress and Apoptosis. *Acta Naturae*. 2010, vol. 2, no. 4, pp. 44-51.
16. Tanaka T., Kutomi G., Kajiwara T., Kukita K., Kochin V., Kanaseki T. Cancer-associated oxidoreductase ERO1-alpha promotes immune escape through up-regulation of PD-L1 in human breast cancer. *Oncotarget*. 2017, vol. 8, no. 15, pp. 24706-24718.
17. Lewis A., Hayashi T., Su T-P., Betenbaugh M.J. Bcl-2 family in inter-organelle modulation of calcium signaling; roles in bioenergetics and cell survival. *J Bioenerg. Biomembr*. 2014, vol. 46, no. 1, pp. 1-15.
18. Cheung K-H.H., Shineman D., Müller M., Cárdenas C., Mei L., Yang J., Tomita T., Iwatsubo T., Lee V.M., Foskett J.K. Mechanism of Ca<sup>2+</sup> disruption in Alzheimer's disease by presenilin regulation of InsP3 receptor channel gating. *Neuron*. 2008, vol. 58, pp. 871-883.

Received 31 March 2021